IMI / LARGE BOOKS
/VIA

RECHERCHES SUR LES MALADIES DE LA VIGNE

RŒSLERIA

IMPERIAL MYCOLOGICAL
9 JAN 1941
INSTITUTE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE RŒSLERIA DE LA VIGNE

PAR

P. VIALA ET P. PACOTTET

EXTRAIT DE LA « REVUE DE VITICULTURE »

PARIS
BUREAUX DE LA " REVUE DE VITICULTURE "
35, BOULEVARD SAINT-MICHEL, Ve

1910

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/rcesleria0000pvia

RECHERCHES SUR LES MALADIES DE LA VIGNE

RŒSLERIA

RECHERCHES SUR LES MALADIES DE LA VIGNE

RŒSLERIA

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE RŒSLERIA DE LA VIGNE

PAR

P. VIALA ET P. PACOTTET

EXTRAIT DE LA « REVUE DE VITICULTURE »

PARIS
BUREAUX DE LA " REVUE DE VITICULTURE "
35, BOULEVARD SAINT-MICHEL, Ve

1910

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE

RŒSLERIA DE LA VIGNE

Le *Roesleria* de la vigne est un champignon des racines universellement répandu ; très commun en France, en Allemagne, on le trouve aussi en Amérique, au Japon, etc. (1). Quoiqu'il soit plus fréquent sur la vigne, il ne lui est pas spécial, car on l'observe sur d'autres arbres tels que cerisiers, pommiers, érables, ormes, etc...

Parasitisme. — Son étude morphologique a été faite depuis longtemps par divers auteurs (2). Seul, son rôle n'a pas encore été nettement précisé au point de vue parasitaire. Il semble bien résulter des multiples observations qui ont été réunies, que le Rœsleria est surtout un champignon saprophyte. On le trouve presque toujours sur les racines de vigne altérées par Phylloxera, Gribouri, Vesperus, Pourridié, excès d'humidité, mauvaise adaptation au sol, ou sur des vignes dépérissantes pour d'autres causes physiologiques.

On n'a relevé que de très rares cas où le bois des racines paraissait sain dans les zones de pénétration du mycélium ; on cite un seul cas, non vérifié, d'inoculation du Champignon sur des racines de vigne vigoureuses. En tous cas, le Rœsleria ne fructifie abondamment que sur des racines à l'état très avancé d'altération.

On ne l'observe jamais sur ces organes lorsqu'ils paraissent encore à l'état sain. Il est en tous cas très difficile de résoudre la question du parasitisme des racines par l'expérimentation. Le développement du Champignon dans les tissus est extrêmement lent ; ce n'est souvent qu'au bout de plusieurs années que les fructifications apparaissent, et la poussée des têtes fructifères à la surface des racines se continue très longtemps.

Nous avons pu voir des racines rœsléries donner des fruits pendant cinq années, par poussées successives tous les cinq ou six mois. En outre, comme les racines ne sont envahies qu'autant que la plante se trouve dans un milieu constamment humide, on se demande si les tissus normaux de la racine ne sont pas altérés par cette humidité constante.

(1) P. Viala : *Monographie du Pourridié des vignes et des arbres fruitiers* (1892). — *Les Maladies de la vigne* (1893).

(2) Voir la Bibliographie complète dans les deux travaux précédents.

Un fait encore assez spécial, c'est qu'on trouve parfois le Rœsleria sur des pieds de vigne qui sont extérieurement d'une vigueur normale ; mais, dans ce cas, quelques racines seulement portent des pieds fructifères en contact avec d'autres racines dans les tissus desquels on n'observe aucune trace de mycélium, et ces racines rœsléríées présentent toujours des tissus brunis. Bien plus, on note encore des extrémités de racines couvertes des fruits du Champignon dans les zones altérées ; ces fruits s'arrêtent brusquement à un niveau au-dessus duquel on ne trouve pas trace encore de mycélium dans les tissus. Il semble donc bien que le Rœsleria est surtout saprophyte et que son parasitisme, même accidentel, doit être très rare.

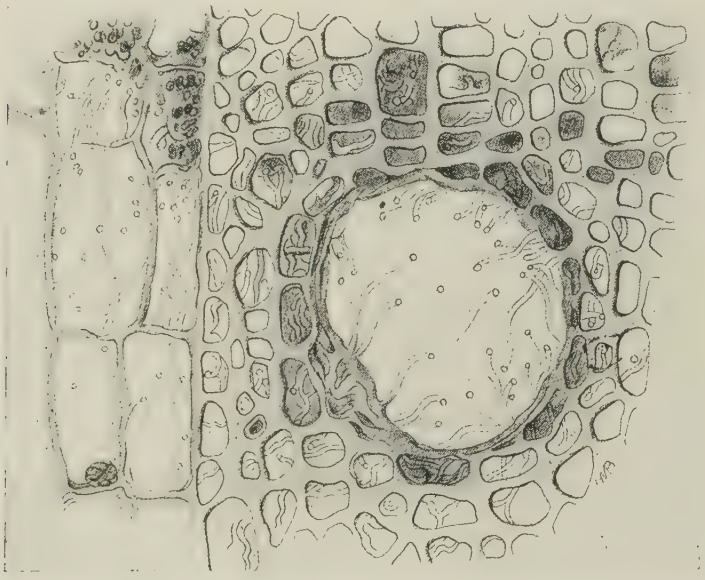

Fig. 1. — Mycélium du Rœsleria, interne aux tissus d'une racine de vigne qu'il traverse dans tous les sens (d'après E. Prillieux). — G = 700.

Retenons deux faits, importants pour ce qui va suivre : c'est la lenteur extrême et la continuité du développement du Champignon dans les tissus des racines, et encore la nécessité d'un milieu constamment humide pour son développement. Ce n'est, en effet, que dans les sols frais que l'on trouve le Rœsleria ; on le voit fructifier sur des racines altérées par les eaux stagnantes, dans les cuvettes des vignobles et dans les sols argileux ; on ne l'a que très rarement signalé dans les sols perméables, caillouteux ou sableux.

Dans le Médoc, par exemple, le Rœsleria n'existe que dans les points où l'eau s'accumule par suite de la présence de l'alios qui forme des poches d'où les eaux ne peuvent s'écouler que très difficilement. Dans ces milieux très humides, et par suite mal aérés, les vignes se rabougrissent, les racines souffrent et le Rœsleria, trouvant un milieu physique et un milieu nutritif favorables, se développe.

Dans les marnes kimmeridjiennes de l'Yonne, sols trop calcaires, mal aérés et frais, le Rupestris du Lot, rabougri par défaut d'adaptation, est fréquemment couvert des fructifications du Rœsleria. Il en est de même dans les sols calcaires et très humifères de la Champagne où le Rœsleria est très commun sur les racines phylloxérées ou altérées par les Gribouri, Dematophora, etc.

Mycélium. — Le mycélium du Champignon est, à l'état naturel, interne aux racines ; jamais on ne l'a observé vivant en surface. Son rôle saprophytaire ne détermine évidemment aucun caractère particulier sur les organes externes de la plante. Tant que le Champignon n'a pas fructifié, les racines envahies par le mycélium ne présentent aucun caractère spécifique ; elles sont simplement plus ou moins noircies, plus ou moins brunies, de consistance spongieuse et humide, jamais poussiéreuse, même celles qui fructifient pendant plusieurs années. Par contre, le mycélium qui vit ainsi dans les tissus est très caractéristique.

Fig. 2. — Fruits du Rœsleria sur racine de vigne. — Grandeur naturelle.

Ce mycélium interne (fig. 1) pénètre tous les tissus en dissolvant et amincissant les membranes non seulement des éléments de l'écorce mais encore du bois, aussi bien les cellules parenchymateuses que les cellules ligneuses. Très abondant dans les rayons médullaires, il pénètre aussi les vaisseaux du bois et du liber, en les parcourant en long et en large, et en les remplissant parfois entièrement.

Il vient s'épanouir à la surface des racines, surtout au niveau des rayons médullaires, sous forme de masses pseudoparenchymateuses condensées qui sont la base des pieds fructifères. Ceux-ci sont, par suite, distribués suivant les rayons comme les radicelles. Ces masses pseudoparenchymateuses, sous forme de coins émergeant à la face des racines, ne fructifient pas toutes. Certaines restent avortées et ont la pointe émergeante très légèrement teintée de vert. Le mycélium intra ou intercellulaire est très petit (1 μ), droit, non variqueux, comme rigide et flexueux, à membrane très épaisse, par suite à lumière très étroite ; l'épaisseur de la membrane égale souvent deux fois le diamètre de la lumière interne. On ne trouve jamais de rétrécissements au niveau des cloisons qui sont très distancées et peu visibles. On ne peut mieux comparer ce mycélium qu'à un mince fil de fer flexueux. Il est peu, ou il paraît du moins peu ramifié dans l'intérieur des tissus, quoiqu'il forme cependant des pelotes dans les cellules. Dans les tissus qu'il dissocie ou qu'il dissout, il est mélangé avec des liquides brunâtres foncés et des fragments de

cellules altérées au milieu desquels il paraît teinté de brun ; mais dans les vaisseaux, par exemple, ou dans les rayons médullaires à des stades peu avancés d'altération, il est incolore et réfringent. Ce caractère d'épaisseur de la membrane, de rigidité du mycélium, s'observe au début de la germination des spores (ascospores). On n'observe pas d'autres formes mycéliennes à l'état naturel dans les racines. Si on maintient des racines rœsléries dans des milieux favorables à la fructification du Champignon, les fruits ascosporés poussent, mais le mycélium n'émerge jamais au dehors.

Fruits ascosporés. — Les fruits ascosporés sont l'organe reproducteur le plus constant, s'il n'est exclusif, du Champignon ; ces fruits permettent de le reconnaître facilement, à l'œil nu, sur les racines (fig. 2). Ce sont de petites têtes (fig. 2), d'un blanc grisâtre ou d'un blanc verdâtre, portées sur un pied le plus souvent blanc laiteux, droit et parfois flexueux, qui émerge à la surface des racines ; il a une hauteur moyenne de cinq à six millimètres. Ce pied est comme enchâssé dans le bois, plus mince à son insertion, dilaté à son sommet, formant ainsi une coupe hémisphérique mamelonnée, portée sur un manche conique (fig. 3). Sur les racines exposées à l'air, les fruits ont une teinte verdâtre, mais on retrouve cette coloration aussi bien sur le pied que sur la tête dans le sol. C'est surtout le pied qui prend cette coloration, et celle-ci n'affecte jamais que les couches superficielles. Les fruits sont parfois très nombreux, isolés ou groupés en touffes sur toutes les faces de la racine qui paraît comme piquée par de petites épingles à tête verdâtre. Vue à un faible grossissement, cette tête (fig. 4) ressemble à un pinceau régulier, avec poils plus allongés.

Fig. 3. — Fruits ascosporés du Rœsleria (d'après E. Prillieux). — G = 4.

Le pied est constitué par un pseudoparenchyme formé, vers les couches externes et sur les 2/3 de l'épaisseur, d'un mycélium mince à membrane épaissie comme celui qui est intérieur aux tissus. Vers le centre du pied et dans la partie centrale de la tête, ce mycélium est à calibre plus grand, à membrane moins épaissie, à cloisons plus rapprochées. Le diamètre des tubes, qui forment ainsi une moelle dense, est parfois trois ou quatre fois supérieur à celui du mycélium interne ou du mycélium de la surface du pied ; il est aussi plus cloisonné. Parfois, ce centre médullaire de la tête présente des colorations verdâtre clair (vert mala-

chite). La tête du fruit, d'aspect tourmenté, mamelonnée, comme spongieuse, a un aspect poussiéreux dû à la formation des spores qui s'isolent de très bonne heure et s'amoncellent, en masse considérable, sur la houppe qu'elles colorent, à sa surface, en vert glauque. Ces spores, vues à l'état isolé, paraissent incolores.

Quand on examine les fruits à un état avancé de maturation, il semble qu'ils sont couverts de conidies formées par scissiparité; mais, en suivant le développement, on constate que l'on a affaire à des ascospores, dont l'évolution successive est à préciser pour ce que nous aurons à dire ultérieurement.

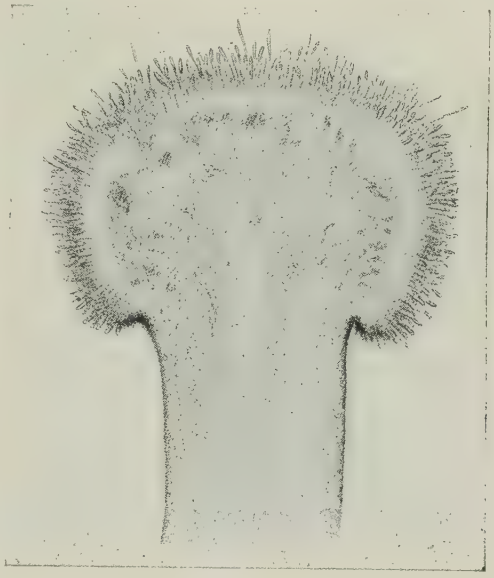

Fig. 4. — Coupe d'une tête de Rœsleria. — G = 20.

La tête du fruit est constituée par un grand nombre de filaments parallèles et dressés à la surface (fig. 4, 5, 6, 10). Les filaments jeunes sont en forme de petites massues rétrécies à la base et dilatées au sommet, remplies d'un protoplasme homogène (fig. 5, 7, 10), et isolées, par une cloison, du tube qui leur donne naissance; il se forme ainsi, sur le tissu du pied et à diverses hauteurs, par ramifications coralloïdes, des quantités considérables de massues fructifères (fig. 6).

La base des tubes terminaux de cet arbre fructifère est parfois très mince et très allongée, d'autres fois courte, ce qui les amène à des hauteurs très variables par rapport à la surface générale de la houppe. Il n'est pas rare de trouver des tubes ascosporés sessiles, tandis que d'autres, au contraire, sont portés sur de très longs pieds (fig. 6).

Fig. 5. — Thèques et paraphyses du Rœsleria. — G = 300.

Les jeunes filaments grossissent en massue et se séparent par une cloison du tissu du pied : leur contenu devient granuleux et reste longtemps en cet état ; puis le protoplasme se condense progressivement en huit masses, origines des spores internes. Celles-ci commencent à se dessiner sous forme de cercles vaguement limités et un peu granuleux (fig. 5, 6, 7). Leur contour s'assombrit et le centre devient transparent. Elles acquièrent un diamètre égal à celui du tube commun

(asque). Le contour de chacun de ces fragments, ou ascospores, est dû à une membrane de cellulose. Par suite de leur grossissement, le tube, qui était lisse, se rétrécit, s'étrangle en face des points de contact, et sa membrane se moule contre ces ascospores ; chaque tube paraît alors formé le plus souvent de huit spores superposées et soudées à leur face de contact, supportées sur un axe plus étroit. Les thèques forment ainsi chacune huit spores, mais quelquefois cinq, six ou sept, par avortement. Quelquefois, on ne trouve que trois ou quatre spores, mais elles ont un aspect très particulier sur l'axe originaire (fig. 9 et 10), aspect que l'on retrouve d'ailleurs aussi sur les asques normaux à huit spores. Les ascospores ne sont pas toutes accolées exactement l'une contre l'autre mais distancées, ainsi que l'avait dessiné très nettement M. Prillieux (1), et, entre elles, le tube est rétréci ; on dirait un chapelet de conidies produites successivement, ou mieux, un chapelet de chlamydospores à formation exogène. Ce caractère très fréquent des ascospores dans les thèques normales du fruit est à bien noter.

Fig. 6. — Etat divers des asques du Rœsleria (d'après E. Prillieux). — G = 900.

Les ascospores se séparent peu à peu en formant la poussière verdâtre de la surface des houppes, sans qu'on puisse voir, au moment de leur séparation, la double membrane qui devrait résulter de l'accolement de la paroi propre de l'asque sur la membrane propre de la spore. On peut se demander si le tube de l'asque ne s'est pas fusionné ou moulé exactement avec la membrane de la spore ou s'il ne s'est pas dissous. Dans les cas d'ascospores séparées, le tube de séparation paraît indépendant et ne forme pas sac.

Au milieu des tubes à asques en massue, sont distribués des filaments beaucoup plus allongés et minces qui restent stériles ; ce sont des paraphyses (fig. 5, 6). Ces filaments sont plus longs que les asques, et ont une ou deux cloisons.

Si l'on maintient les pieds fructifères poussant sur racines dans un milieu humide et chaud, les spores poussiéreuses de la surface de la houppe germent ; mais ce que nous tenons à noter, c'est que, dans

(1). E. Prillieux. Le Pourridié des vignes de la Haute-Marne produit par le Rœsleria hypogæa (*Ann. Institut agronomique*, 1882).

ces conditions, les paraphyses s'allongent en tubes mycéliens peu ramifiés et forment ainsi un lacis mycélien, au milieu des spores.

Ascospores. — Les ascospores (fig. 11), accumulées à la surface des houppes, forment une poussière verdâtre et restent inertes. Si le milieu est maintenu sec, paraphyses et pieds des asques disparaissent; l'on dirait à ce moment une tête de Mucorinée.

Fig. 7, 8, 9. — Autres états des asques du Rœsleria (d'après E. Prillieux). — G = 900.

Si le milieu est humide, les ascospores germent (fig. 12) au contraire très vite et très facilement, en formant à la surface de la tête un enchevêtrement de tubes mycéliens. Ces spores sont globuleuses (fig. 11); certaines paraissent un peu aplaties ou légèrement discoïdes, transparentes au centre ou légèrement ombrées ; leur contenu est le plus souvent homogène. On ne distingue la membrane assez épaisse qu'en coupe optique. Quelques spores, attenant encore au pied de l'asque (fig. 8, 9, 10), montrent cette membrane réfringente, très épaisse et incolore, quand on les examine à l'état isolé. Si les ascospores sont groupées, on perçoit une légère teinte verdâtre. Il est à bien noter qu'il n'est pas possible de déceler des zones dans la membrane épaisse. La paroi de l'asque, qui s'était moulée exactement contre les ascospores, s'est-elle fusionnée avec elle? En tout cas, elle ne s'est pas transformée en mucilage qu'on ne peut révéler. Dans l'état des figures 8, 9, les spores, accolées intimement les unes aux autres comme des conidies, ne montrent même pas, quand elles sont mûres, trace de la paroi de l'asque.

Fig. 10. — Asque du Rœsleria à 6 spores. (d'après E. Prillieux). — G = 900.

Les spores ont des dimensions assez fixes de 5 μ de diamètre; quelques-unes d'entre elles, fort rares et produites indifféremment au milieu de spores simples, présentent une cloison très accusée par une ligne sombre. Elles germent facilement à une température de 15° à 20° en milieu humide ou liquide. La spore commence à s'assombrir et montre, au bout de un à trois jours, sur un point quelconque de sa surface, une légère proéminence, origine du mycélium qui, comme enchâssé dans la spore, se développe en un tube mince, étroit, un peu flexueux, à membrane épaisse (fig. 12). Deux tubes mycéliens peuvent se produire à la fois sur une même spore simple à un intervalle plus ou moins

long. Dès la germination, il se forme à l'intérieur de la spore une vacuole autour de laquelle le protoplasme est grumeux.

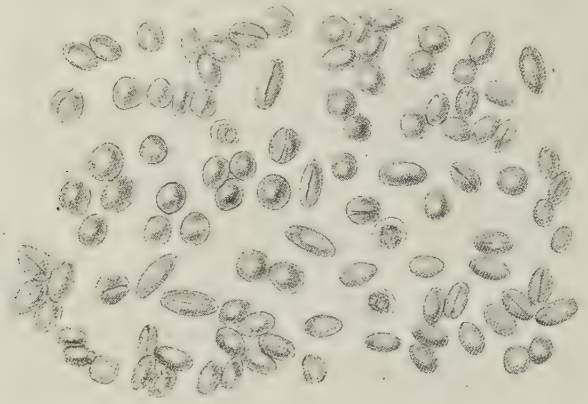

Fig. 11. — Ascospores du Rœsleria. — G = 700.

Le Rœsleria appartient aux Ascomycètes-Discomycètes. Sa synonymie est la suivante (1) : **Vibrissea hypogæa**, Richon et Le Monnier ou **Pilacre pallida** Persoon. — *Pilacre Friesii* Weinmann ; *Pilacre Weinmanni* Fries ; *Pilacre subterranea* Weinmann ; *Sphinctrina coremioïdes* Berkeley ; *Vibrissea flavipes* Rabenhorst ; *Rœsleria hypogæa* Thümen ; *Coniocybe*

Fig. 12. — Germination des ascospores. — G = 700.

pallida Persoon ; *Calicium pallidum* Persoon ; *Embollus pallidus* Wallr. ; *Embollus stilbeus* Wallr. ; *Coniocybe stilbea* Ach. ; *Rœsleria pallida* Saccardo.

(1) P. Viala, *Les Maladies de la vigne*, p. 316.

CULTURE DU ROESLERIA

Isolement du Rœsleria. — Nous avons tenté la culture artificielle du Rœsleria sans succès pendant plusieurs années et nous n'y sommes parvenus qu'en 1904. La lenteur extrême du développement du Champignon en milieu artificiel et les particularités si curieuses de son développement ont nécessité six années d'observations successives.

Les procédés d'ensemencement par bouturage du mycélium extrait des tissus, que nous avions employé pour d'autres Champignons, ne nous avaient pas donné de résultat. Le bouturage des cônes d'émergence du mycélium à la surface des racines originaires des thèques n'a pas non plus

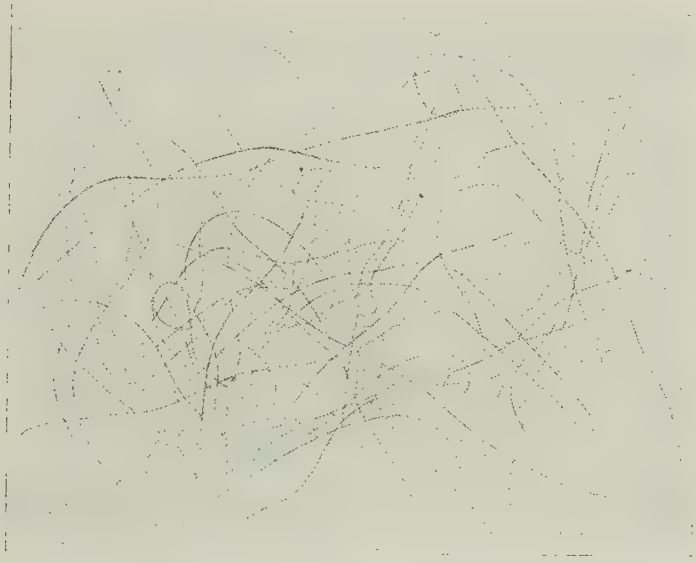

Fig. 13. — Premier mycélium des cultures artificielles du Rœsleria. — G = 100.

réussi. Nos essais étaient toujours infructueux lorsque nous ensemencions des ascospores prises sur des têtes poussées dans le sol. Les spores de saprophytes ou les bactéries prennent toujours le dessus dans les cultures.

Des racines portant quelques fructifications, et par suite en pleine invasion du Champignon, ont été brossées à la surface de façon à les débarrasser de leurs têtes fructifères et de l'écorce adhérente ; puis elles ont été lavées à maintes reprises avec de l'eau stérilisée et brassées quelques instants dans l'eau à 60-70°. Ces racines rœsléries ont été maintenues dans des bocaux cylindriques aseptisés, et mis à l'obscurité, à une température moyenne de 15 à 20° ; de l'eau stérilisée baignait la base seule des racines ; les bocaux étaient bouchés. Au bout d'un temps assez long (3 à 4 mois), de nouvelles têtes de Rœsleria apparaissaient et certaines racines paraissaient indemnes de tout autre Champignon. Ces têtes se dévelop-

paient lentement et fructifiaient; leurs ascospores étaient ensemencées à tous les états de développement; mais les semis ne poussaient qu'à un état bien particulier de maturation de la spore. On ne réussit, en effet ces semis que lorsque les spores germent normalement à la surface des houppes fructifères. De nombreux semis ont été ainsi faits et renouvelés plusieurs années; certains, dès le début, étaient absolument purs. Nos cultures ultérieures ont eu pour point de départ, et à plusieurs reprises, divers de ces semis.

Fig. 14. — Mycélium de culture du Rœsleria. — G = 1500.

Le Champignon une fois isolé, — et l'isolement a été reproduit maintes fois, — les cultures ont été variées dans divers milieux, en milieux solides et en milieux liquides.

Premier milieu de germination. — Le milieu de culture qui donne les meilleurs résultats est constitué par du bouillon de haricots sucré, acidulé à l'acide tartique, (sucre 5 % et acide 1 °/$_{oo}$). C'est dans ce milieu, et à une température de 20-25°, que sont déposées les poussières de spores en voie de germination sur les têtes. Au bout de deux jours, on

aperçoit des flocons aranéeux blanchâtres dans le fond du liquide, (tubes ou ballons). Ces flocons montrent les spores en germination avec leurs minces tubes, droits, flexueux ; reportés sur d'autres milieux de culture, le développement mycélien continue. Le Champignon présente, suivant ces milieux, des caractéristiques très tranchées et très particulières, suivant qu'il vit à la surface du milieu solide ou du milieu liquide, ou encore suivant qu'il se développe immergé dans les liquides.

Dans tous les cas cependant, les premières phases du développement sont à peu près identiques. La spore germée donne une mince trame

Fig. 15. — Faux rhizomorphe des lames mycéliennes des cultures artificielles du Rœsleria. — G = 100.

mycélienne floconneuse, s'irradiant autour du point primitif, d'abord sous une faible épaisseur, et s'étendant en surface. Cette trame mycélienne, à poussée lente, s'épaissit de plus en plus ; elle est, au premier stade du développement, d'une teinte blanc nacrée. Mais, ce qui caractérise d'une façon très marquée les cultures du Champignon dans tous les milieux quels qu'ils soient, c'est la belle teinte d'un vert malachite que prennent les masses mycéliennes. Avant l'apparition de cette belle matière colorante, le mycélium a des caractères identiques à ceux du Rœsleria dans les tissus des racines envahies à l'état naturel. Les tubes mycéliens, entrecroisés et disséminés dans tous les sens, sont droits, flexueux,

non variqueux, à cloison très distancée, à contenu homogène et à membrane très épaisse (fig. 13). Quand la culture vieillit un peu, les cloisons se rapprochent, les tubes deviennent vaguement variqueux et conservent toujours une épaisse membrane, très apparente sur ceux qui se présentent en coupe optique (fig. 14). A partir de ce moment, l'influence des milieux se manifeste par des caractères très variés aussi bien sur le mycélium que sur les organes de reproduction qui en résultent.

Milieux solides. — Quand on ensemence les spores germées du Rœsleria sur boîte de bouillon de haricots gélatinés ou gélosés, avec acide et sucre (ou sans ces corps), on obtient un faible développement en surface, jamais

Fig. 16. — Mycélium des cultures vieilles de Rœsleria. — G = 250.

en profondeur. Une trame aranéeuse peu épaisse se diffuse circulairement autour du semis, pousse très lentement, et prend une teinte vert glauque peu accusée, assez comparable à celle du Penicillium. Elle ne pousse plus dès que le milieu sèche un peu. Les variations de température n'ont aucune influence sur la rapidité du développement. Les mêmes phénomènes se manifestent, que les cultures soient exposées à la lumière ou à l'obscurité.

Pour arriver à de très belles cultures en grosses masses, il faut ajouter dans les milieux des fragments de racines ou de bois (racines, troncs ou sarments) bouillis pendant longtemps dans l'eau; ce qui les rend spongieux et les dissocie en partie. Ces bois ainsi cuits, mis dans de grands ballons de cinq litres, sont piqués sur un fond de gélatine ou gélose nutri-

tives de plusieurs centimètres d'épaisseur. Ces ballons sont stérilisés à plusieurs reprises et mis en observation. Ils sont ensuite ensemencés soit avec des spores germées, soit avec les trames mycéliennes des premières boîtes à faible développement. Dans ces conditions, le Rœsleria prend un merveilleux développement, surtout si le milieu est maintenu humide et peu aéré ; ce que l'on réalise en encapuchonnant fortement le goulot des ballons.

La poussée mycélienne est aussi belle à la lumière diffuse qu'à l'obscurité, à une température constante de 20 à 25° qu'à une température variable, avec des maxima de 30° ou des minima de 4 à 5°, ou encore à l'obscurité, dans une cave, à une température moyenne de 8 à 10°. On n'observe pas en somme, pour ce Champignon, l'influence généralement très grande qu'ont les variations de température de quelques degrés, ou les variations d'intensité lumineuse. Les températures de 12 à 14° nous ont toujours donné le développement le plus régulier. Il en est d'ailleurs ainsi pour les champignons du sol, tel le *Dematophora necatrix*. Nous retiendrons cependant que la poussée active du mycélium ne se manifeste guère qu'à partir de 8°.

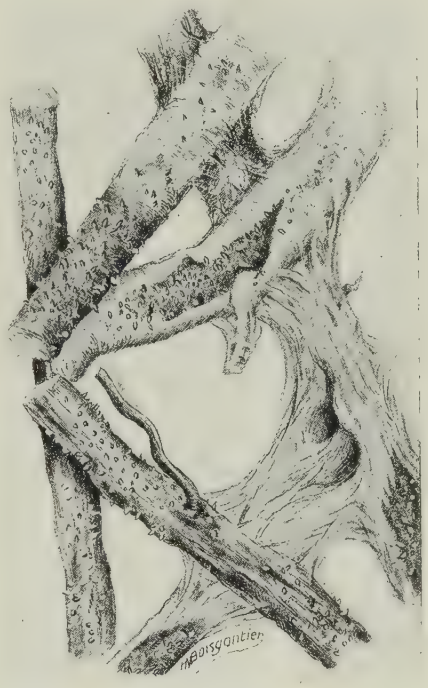

Fig. 17. — Conidiophores sur racines de vigne. Grandeur naturelle.

Dans les grands ballons préparés comme nous venons de le dire, le semis pousse lentement ; ce n'est qu'au bout de quatre à cinq mois que la culture est à son maximum de végétation mycélienne. On observe tout d'abord de fines trames blanchâtres qui s'étalent à la surface de la gélatine ou de la gélose sans jamais les pénétrer. Le mycélium gagne les bois et alors le développement devient plus rapide ; de gros flocons cotonneux s'étendent dans l'ensemble du ballon, s'appliquent contre les parois, emprisonnent entièrement, d'une couche épaisse qui se condense de plus en plus, tous les fragments de racines, de tiges, et viennent s'étaler à la surface de la gélatine.

Mais, de très bonne heure, la belle teinte vert malachite apparaît dans les masses mycéliennes. Tout l'ensemble est définitivement coloré avec les parois des flacons souvent verdies. Les cultures ont, à ce moment, une couleur très caractéristique qu'on ne retrouve pour aucun autre Champignon.

Les flocons vert malachite, quand les cultures vieillissent, se condensent et s'appliquent en lame contre leurs supports.

Si le milieu reste toujours humide, de nouvelles poussées floconneuses, d'abord blanchâtres, s'entremêlent aux lames vert malachite ; elles s'affaissent à nouveau et plusieurs poussées successives se produisent ainsi, à des intervalles plus ou moins rapprochés et pendant un temps plus ou moins long. Nous avons des cultures qui, depuis six ans, continuent à ponner ces poussées mycéliennes.

Tant que la teinte vert malachite ne s'est pas montrée dans les lames mycéliennes, les tubes mycéliens, en flocons blancs, sont tous à calibre

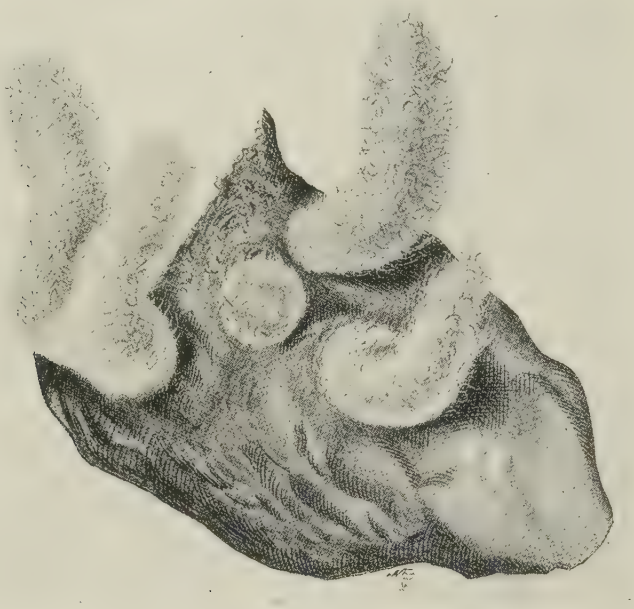

Fig. 18. — Conidiophores en culture artificielle sur racine. — Grossissement = 10.

très étroit, à membrane épaisse (fig. 13), comme rigides, à cloisons très distancées.

Quand la lame croît, il se forme dans son épaisseur de faux rhizomorphes (fig. 15) par agglomération irrégulière et inégale des tubes mycéliens. Ces faux rhizomorphes affectent des formes très variées, parfois très irrégulières.

Les filaments verdissent de bonne heure, puis ils se ramifient et quelques tubes plus gros se forment ; mais ces derniers restent rigides, peu flexueux, à cloisons peu rapprochées, à membrane très épaisse. On n'observe pas, dans les masses mycéliennes, de très grosses différences dans le calibre des tubes qui les composent, comme cela a lieu pour beaucoup de Champignons en culture artificielle. Le contenu des tubes ne devient grumeux que dans les cultures vieillies ; ils présentent alors de

nombreuses vacuoles (fig. 16). La matière colorante, très intense, paraît fixée surtout sur la membrane. Un caractère constant de tous ces tubes mycéliens, c'est qu'ils sont peu ramifiés et enchevêtrés dans les lames et dans les masses floconneuses.

Conidiophores.— Quand les cultures vieillissent, la teinte vert malachite se fonce et ternit pendant que le mycélium s'affaisse. Cette teinte devient de plus en plus foncée, d'un noir verdâtre, et sur les bois, qui pendant plusieurs mois ont donné les belles productions mycéliennes que nous venons de décrire, se montrent de petites

Fig. 19. = Un conidiophore isolé. G = 40.

Fig. 20. — Sommet d'un conidiophore. G = 150.

condensations de mycélium blanchâtre, piquées dans l'épaisseur des supports; celles-ci s'allongent et acquièrent une hauteur moyenne de un à deux millimètres.

Elles sont parfois très nombreuses, comme de petites verrues, d'un blanc ou d'un blanc mat grisâtre, isolées ou tangentes; dans ce dernier cas, elles sont le plus souvent insérées, au nombre de deux ou trois et jusqu'à sept et huit, sur une grosse base mycélienne, dense, pseudoparenchymateuse.

Ces condensations mycéliennes, de 3 à 5 millimètres de base et de 1 à 3 millimètres de haut, piquées sur les racines du mycélium au milieu des plaques, restent parfois stériles ; elles sont alors verruqueuses au sommet par avortement des têtes.

Fig. 21. — Conidies au sommet d'un conidiophore. G = 1000.

Normales, elles ont des formes assez variées, cylindriques, coniques (fig. 17, 18, 19), rigides ou peu flexueuses ; elles s'effilent toujours un peu vers leur sommet dont la surface est comme barbelée : ce sont des conidiophores. Ces conidiophores ne se produisent ainsi, en culture artificielle, que sur milieu un peu desséché, presque épuisé et depuis longtemps en culture, ou au moins lorsque l'ensemble du Champignon paraît dépérir. La quantité de conidiophores produits dans certains ballons est parfois énorme, tandis que dans d'autres, dans les mêmes conditions, quelques rares conidiophores apparaissent, et cela sans que nous ayons pu déterminer les causes de cette différence (éclairement, température, humidité, nutrition).

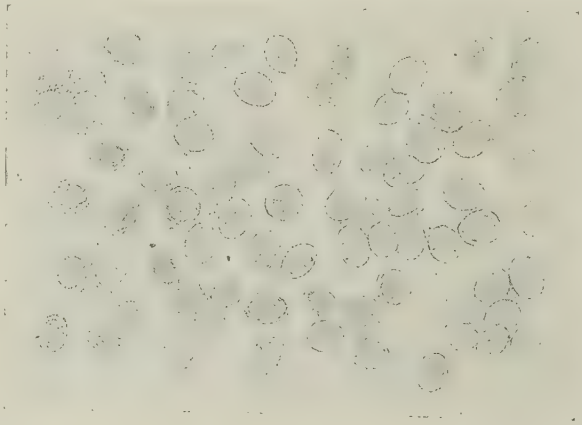

Fig. 22. — Conidies isolées. — G = 1000.

Les conidiophores, d'un blanc un peu jaunâtre, aux premières époques du développement, ont quelques zones verdies vers le sommet, dans la région la plus fructifère. Ils sont tronconiques, plus rarement cylindriques. L'axe, épais, est constitué par un mycélium fin, serré en pseudoparenchyme. Sur tout le pourtour et sur toute la hauteur (fig. 19, 20),

se détachent des filaments flexueux d'inégale longueur, qui donnent aux conidiophores un aspect pileux. De ces filaments, certains restent plus petits et sont stériles. D'autres, flexueux, plus gros, peu cloisonnés, ont un contenu homogène réfringent; ils sont renflés à leur sommet (fig. 21) sur lequel se forme bientôt une cloison séparant une seule conidie. Lorsque la conidie est tombée, ces filaments parfois s'accroissent, sans produire de nouvelle spore, de telle sorte que les vieux conidiophores, dans les cultures encore vivantes, sont comme enveloppés de filaments aranéeux à leur surface. Les conidies, incolores, à peine teintées de vert clair, sont subsphériques, à contenu homogène réfringent, à membrane très épaisse (fig. 21, 22); elles mesurent 4 μ sur 5 et varient de 5 à 6 μ sur 4,5 à 5 μ.

Fig. 23. — Culture de Rœsleria en milieu humide. — Réduction : 4/5.

Les conidiophores du Rœsleria qu'a décrits Ch. Richon (1), le seul auteur qui les ait observés une fois dans la nature, ont quelques ressemblances avec ceux de nos cultures, mais ne sont pas, d'après sa description, identiques. D'ailleurs, cette seule observation de Ch. Richon, non renouvelée par d'autres auteurs ni par nous-mêmes, n'est pas suffisante pour affirmer la relation des organes qu'il a décrits avec le Rœsleria.

Jamais nous n'avons observé aucune formation analogue de conidiophores dans les milieux liquides.

(1) Voir P. Viala : *Les Maladies de la vigne* (1893), p. 314, fig. 118.

Milieux liquides. — La poussée mycélienne dans les liquides est variable suivant l'épaisseur du milieu, suivant aussi que le Champignon est en surface ou en profondeur. Dans des ballons de 100-125 centimètres cubes, avec une épaisseur de liquide de 1 centimètre, les semis, provenant des asques ou des diverses cultures artificielles, forment une lame condensée, constituée par des tubes mycéliens réguliers, analogues à ceux des

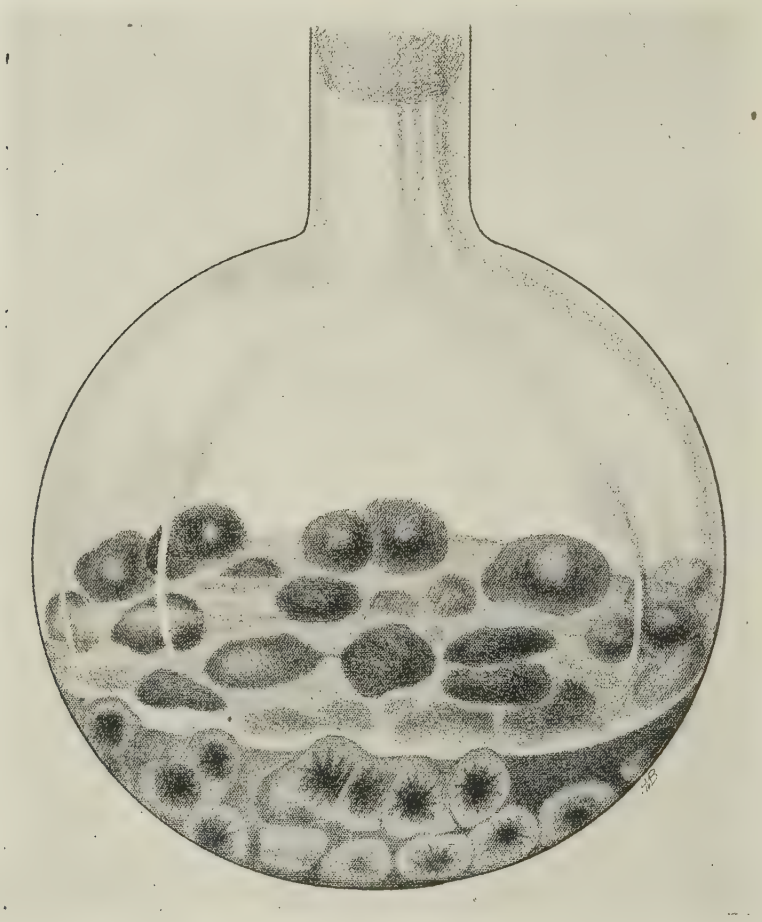

Fig. 24. — Culture de Rœsleria en ballon, en milieu liquide. — Réduction 1/3.

tissus des plantes envahies. A la surface et à l'air, la lame est d'un vert moins sombre que dans l'épaisseur du liquide. Là, le vert malachite est tellement foncé qu'il paraît noirâtre ; la lame est plus floconneuse, moins dense ; les tubes mycéliens y sont plus cloisonnés, à plus grand calibre, à membrane moins épaisse ; mais il faut noter que, dans ces flocons, les tubes ne présentent pas les renflements caractéristiques que nous décrirons dans d'autres cas. Il n'y a, en somme, rien de bien particulier à retenir pour ces cultures en milieu liquide de faible épaisseur. Le phénomène

le plus particulier que présente le Rœsleria dans son développement est celui que l'on observe dans des récipients et surtout dans des flacons cylindriques, à grande épaisseur de liquide.

Fruits chlamydosporés. — Les phénomènes s'observent dès que l'épaisseur du liquide atteint 15 à 20 centimètres. C'est dans un bouillon de haricots (avec, sucre 5 %, acide tartrique 1 °/₀₀), que les plus beaux résultats ont été obtenus ; mais le développement des formes que nous allons décrire est extrêmement lent. La progression est identique lorsque la température est constante à 8-10° ou à 20-25°, aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière.

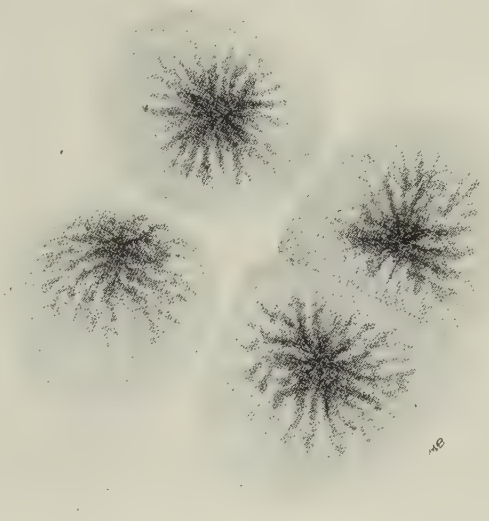

Fig. 25. — Fruits chlamydosporés du Rœsleria, au début de leur coloration. — Grandeur nature.

Si on prend des fragments de lame mycélienne assez dense, et qu'on les ensemence en les immergeant dans des flacons de 1 litre (fig. 23), la poussée mycélienne se produit, presque toujours, en débutant sur les parois et plus rarement sur le fond. Si l'on agite le flacon au début de l'ensemencement, on voit le semis évoluer à la fois en divers points des parois.

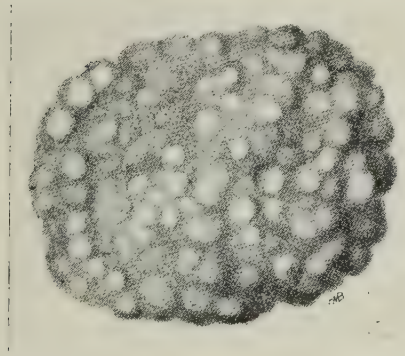

Fig. 26. — Fruit chlamydosporé vu par sa face supérieure mamelonnée. — Grandeur nature.

Le réseau primitif, petit, s'étend lentement sur cette paroi, mais, par contre, y grossit beaucoup vers l'intérieur du liquide. Il se forme des masses hémisphériques, spongieuses, aplaties contre le verre. Ces boules se développent lentement ; elles n'atteignent leur complet développement qu'au bout de dix mois, au minimum cinq ou six mois.

Elles restent toujours isolées quand elles sont adultes, ne se fusionnant jamais avec les sphères voisines. Elles ont alors des caractères constants, mais des dimensions variées ; elles mesurent de 2 à 5 centimètres de diamètre sur 1 à 3 centimètres d'épaisseur. Leur aspect est très caractéris-

ique. On dirait à première vue, à cause de la teinte très foncée qu'elles ont sur la face interne, des agglomérations de Nostoc qui, au lieu d'être lisses à leur surface, seraient mamelonnées (fig. 26). Ces sortes d'éponges nostocoïdes sont, à l'état jeune, d'un vert jaunâtre clair; mais bientôt (fig. 25) se dessinent au pôle de la sphère, et sous forme de rayons divergents aranéeux, des zones en vert plus foncé; le vert foncé gagne peu à peu tout le pourtour qui, en même temps, se mamelonne (fig. 23 et 26). Ces sphères sont très adhérentes aux parois et elles y sont accolées par une sorte de pied (fig. 23, 27, 28), à peine teinté en vert, et comme encastré dans l'épaisseur du tissu spongieux. Les bords de la sphère s'appliquent sur la paroi, autour du pied, en formant ventouse.

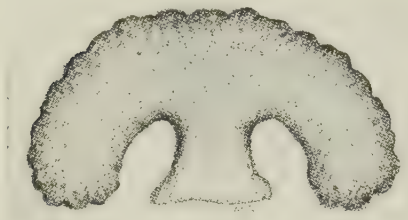

Fig. 27. — Coupe à travers la tête d'un fruit chlamydosporé. — Grandeur nature.

Quand on peut obtenir ainsi un grand nombre de grosses sphères, jusqu'à quinze et vingt dans le même flacon, les cultures sont très particulières à observer (fig. 23); et nous ne connaissons aucun autre Champignon pour lequel on ait noté, jusqu'à maintenant, des phénomènes analogues. Ces sphères nostocoïdes se foncent de plus en plus en vieillissant et finissent par se détacher; elles tombent au fond du flacon, restant individuellement distinctes. Il s'en forme parfois de nouvelles sur les parois.

Notons que ces sphères, quand elles ont atteint leur dimension définitive, avec cette belle couleur vert malachite à leur surface mamelonnée, restent un certain temps comme à l'état de repos; puis on voit la surface se couvrir de fins filaments floconneux, courts, qui emprisonnent la surface sphérique intérieure au liquide. Quelques flocons légers se détachent; les uns remontent à la surface, et là se développent en formant des trames mycéliennes condensées, d'un blanc laiteux, nacré d'abord (fig. 23, surface) dont la partie immergée prend peu à peu, en s'épaississant, la teinte malachite et l'aspect des lames que nous signalions tout à l'heure sur milieu liquide en faible épaisseur.

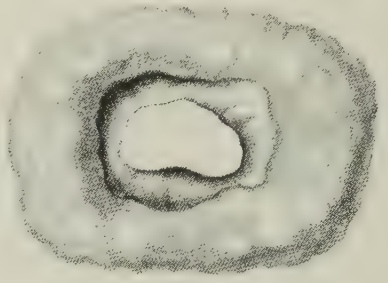

Fig. 28.
Fruit chlamydosporé vu par sa face d'insertion.

La nature de ces si curieuses formations en milieu immergé est difficile à interpréter; l'étude détaillée des tissus qui les forment ne permet cependant pas de douter que ce sont des fruits chlamydosporés que l'on pourrait rapprocher des fruits thécasporés.

Ces *fruits aquatiques* sont constitués (fig. 26, 27, 28, 29) par un pied très court portant une masse hémisphérique qui rappelle, dans un certain sens, le chapeau de quelques Basidiomycètes courtement pédonculés. C'est, si l'on veut, un fruit normal de Rœsleria sur racine, beaucoup plus volumineux, mais dans lequel le pied très court supporterait une tête très élargie. Ce pied et la masse centrale de la tête sont formés par une trame mycélienne dense, presque incolore, formée, à l'insertion du pied et dans son épaisseur, par de minces filaments mycéliens enchevêtrés, presque parenchymateux, moins serrés vers la zone interne, où ils

Fig. 29. — Coupe à travers la tête d'un fruit chlamydosporé. — G = 20.

forment une trame très enchevêtrée et de moins en moins dense, incolore toujours, ou très peu colorée; la coloration intense n'existe, en somme, que dans les couches mamelonnées externes de la masse nostocoïde. Le mycélium du pied et du centre de la sphère est analogue au mycélium des trames de culture en surface des milieux solides, ou à celui qui pénètre les tissus des plantes envahies par le Rœsleria (fig. 14, 16).

Mais, dans la zone colorée et dans les parties internes de cette zone, la trame enchevêtrée de fins mycelia émet, en quantité, des tubes dont quelques-uns gardent leur mince calibre ; mais les autres, les plus nombreux, présentent, dès le début, un aspect très particulier (fig. 30, 31). Ils ont un calibre de 3 à 4 μ. Ils sont d'un blanc nacré, brillant, avec de

très fines et rares granulations régulières, donc à protoplasme très homogène.

Presque aussitôt, ces tubes se renflent (fig. 31) en boules successives qui s'accusent de plus en plus, comme dans le cas de tubes mycéliens d'autres Champignons produisant des chapelets de chlamydospores. Le nombre des dilatations est très variable ; on en compte au moins cinq et jusqu'à quinze et vingt. On observe souvent 4, 7, ou 8 renflements.

Une dilatation au sommet termine assez souvent le tube, mais le fait n'est pas constant. Les dilatations superposées sont parfois séparées les unes des autres par un fragment de tube non dilaté, et parfois encore le

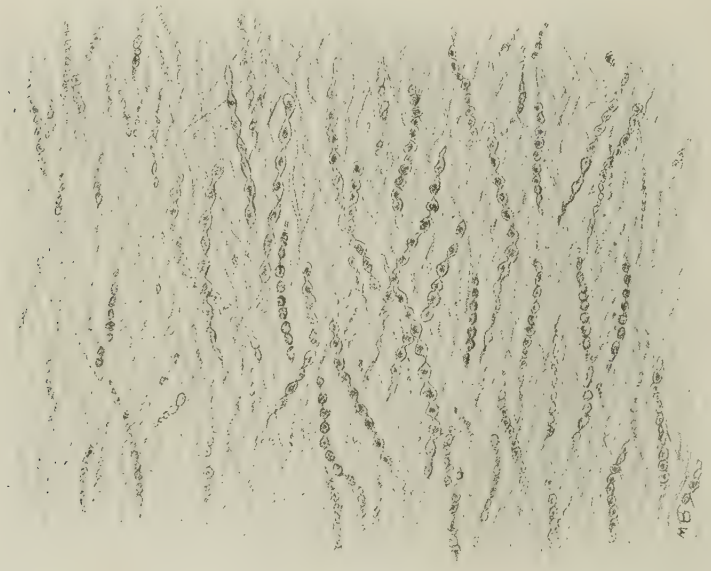

Fig. 30. — Coupe dans le sommet d'une tête de fruit chlamydosporé montrant la disposition radiale des chapelets de spores. — G =150

tube se prolonge au-dessus des dilatations sur une plus ou moins grande étendue. Dans ce cas, l'aspect du tube, à dilatations plus ou moins nombreuses, est celui du mycélium à chlamydospores d'autres Champignons.

En tous cas, ces dilatations régulières, incolores au début, deviennent de plus en plus grumeuses et commencent à se teinter, seules, en vert. C'est à ce moment seulement qu'on les voit s'isoler les unes des autres par des cloisons (fig. 32). La teinte verte se fonce ; les dilatations s'accroissent et deviennent de plus en plus sphériques. Une membrane propre pour chacune d'elles s'accuse et devient très épaisse. On a définitivement des séries, plus ou moins nombreuses, de cellules sphériques superposées, qui se détachent en vraies spores et qui germent soit

à l'état isolé, soit à la surface des masses nostocoïdes, en poussées successives.

Ces spores (fig.32) sont sphériques, de dimensions à peu près semblables (de 4, 5 μ à 6 μ) à celles des sporidies (ascospores) du Rœsleria, à membrane très épaisse, à contenu homogène très granuleux et à fines granulations.

On ne trouve les chapelets de spores que dans l'écorce de ces fruits aquatiques où ils sont serrés, plus ou moins enchevêtrés, dans leur

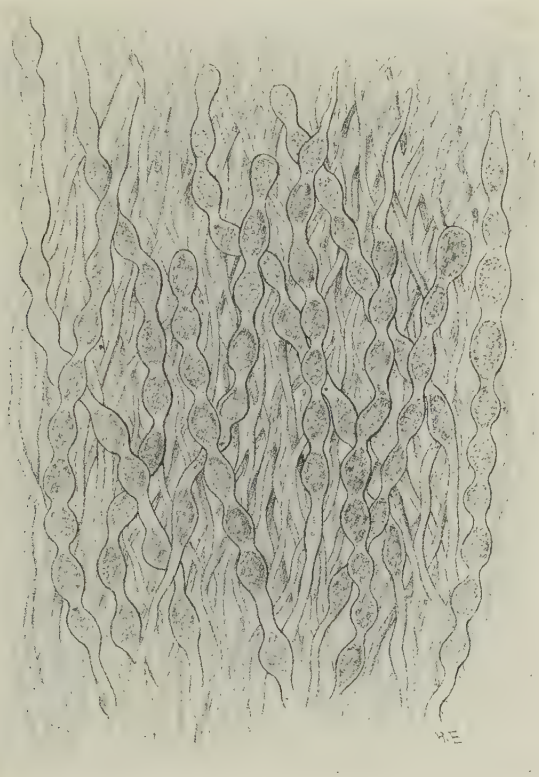

Fig. 31. — Fragment d'une tête de fruit chlamydosporé aux premières phases du développement, avant la coloration. — G = 1000.

direction plutôt radiale. Ce sont eux qui colorent ces masses spongieuses à leur surface ; quand on dessèche lentement les fruits (dans un vide relatif), les chapelets de spores forment une poussière verdâtre à leur surface, analogue à celle que l'on observe sur les thèques naturelles du Rœsleria. Elles se disjoignent alors plus facilement les unes des autres et montrent leur membrane très épaisse et très apparente.

Comment interpréter la nature de ces productions si particulières en plein milieu liquide, presque anaérobie, et obtenues dans ce milieu seulement? On serait tenté, à cause des analogies que nous avons relevées,

de comparer ces masses nostocoïdes à des thèques monstrueuses de Rœsleria, et, par conséquent, à des fruits ascosporés ; mais la variation et le nombre des sporoïdes, parfois intercalés dans les tubes, ne paraissent pas permettre l'assimilation. En outre, nous n'avons jamais pu déceler la membrane commune, comme celle d'une asque, à l'ensemble des spores d'un même tube. Nous n'avons pu voir non plus, dans l'étude cytologique du tube, avant sa dilatation, l'existence, comme dans la thèque, de noyaux primitifs, origines de spores internes. Sans doute, dans la thèque normale de Rœsleria, la paroi commune aux ascos-

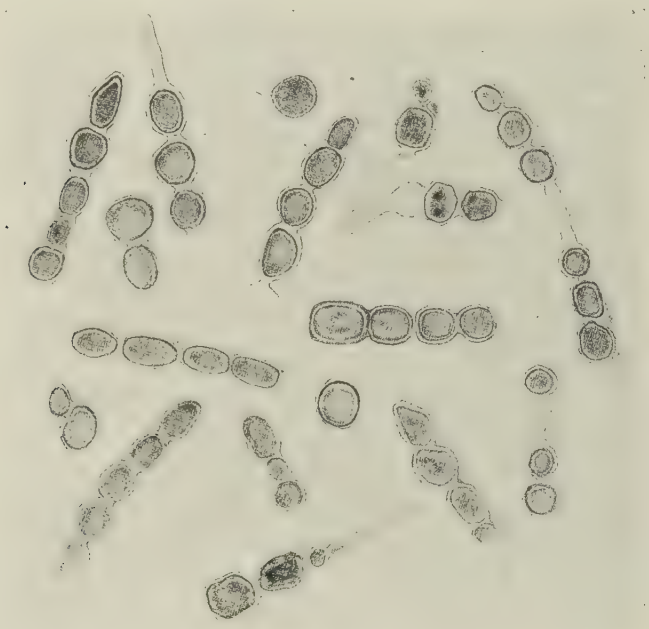

Fig. 32. — Spores des fruits chlamydosporés. — G = 1000.

oresp se fusionne avec leur membrane propre, dont on ne peut la distinguer quand ces sporidies sont mûres. Mais il n'en reste pas moins que la nature ascosporée de ces fruits aquatiques ne peut être précisée.

Ces formations sont-elles des fruits composés de chlamydospores se produisant, dans ce cas, de façon très spéciale par rapport à ce qui a été constaté pour d'autres Champignons ? Dans ceux-ci, les chlamydospores sont disséminées irrégulièrement dans les tubes mycéliens, et jamais groupées sous forme de fructification régulière et constante.

Malgré les nombreuses recherches que nous avons poursuivies pendant plus de trois années, nous devons laisser en suspens l'interprétation de la nature de ces *fruits chlamydosporés* pour lesquels nous ne sachions pas que rien d'analogue ait été signalé.

Matière colorante. — La matière qui teinte d'un si beau vert malachite l'ensemble des organes du Champignon en culture artificielle, (conidiophores exceptés) est d'aspect identique à celle qui donne la coloration verte aux asques du Rœsleria sur racines de vigne et surtout de cerisier. Elle imprègne le mycélium d'une façon intense; l'on n'arrive à décolorer les filaments qu'avec beaucoup de peine. Il ne nous a pas paru qu'elle fût intérieure aux cellules, même dans le mycélium le plus granuleux ni dans les cellules de surface des fruits chlamydosporés en milieu liquide.

La production de la matière colorante, constante dans toutes nos cultures, n'est influencée en rien, dans son développement et dans sa teinte, par les conditions extérieures ou par les milieux nutritifs. Sur milieu solide, plus ou moins aéré, ou en milieu liquide, et, dans les deux cas, à diverses températures, à la lumière ou à l'obscurité, le beau vert malachite imprègne toujours de la même façon le Champignon.

Cette matière colorante a été traitée par divers dissolvants. Elle ne se dissout pas, par exemple, dans le xylol et le tétrachlorure de carbone ; elle est surtout soluble dans l'acétone et aussi dans l'éther, où elle maintient sa teinte originelle. Peu soluble dans le chloroforme, elle y prend une teinte bleue azurée; peu soluble dans l'alcool, verte d'abord, elle y acquiert rapidement une teinte jaune brunâtre.

Dans les acides minéraux, faibles, à 5 %, aucun virage immédiat de la matière colorante ne se manifeste; aux doses de 15 à 20 %, elle brunit assez rapidement. Il en est de même pour les bases.

Quand on fait évaporer les solutions, produites dans l'éther et l'acétone, on obtient une sorte de résine mi-cristallisée, verdâtre, qui finit par brunir.

PARIS. — IMPRIMERIE LEVÉ, RUE CASSETTE 17.